MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DE L'ASCOCARPE ADULTE DU *TUBER MELANOSPORUM* VITT. (Truffe noire du Périgord, Discomycètes)

par A. PARGUEY-LEDUC*, C. MONTANT** et M. KULIFAJ**

RÉSUMÉ – Les ascocarpes du *Tuber melanosporum* présentent des caractères tout à fait originaux par rapport à ceux des apothécies des Pézizales; plus ou moins globuleux, et non cupuliformes, ils sont constitués par une volumineuse glèbe interne (veines fertiles associées à des veines stériles) et un mince péridium externe, à écailles de divers types. Dans la glèbe, l'hyménium est également atypique : les asques, globuleux, sont dissociés des paraphyses; ces dernières se prolongent, en outre, par un réseau arachnoïde dans les veines stériles.

Ces caractères ajoutés à ceux, tout aussi singuliers, de l'ascosporogénèse, des asques et des ascospores, permettent de supposer qu'à partir d'une forme ancestrale commune, se seraient détachés deux phylums : l'un conduisant aux Pézizales relativement peu évoluées, et l'autre aux Tubérales diversement évoluées.

SUMMARY. – Compared with those of Pezizales, *Tuber melanosporum* ascocarps display particularly original characters : more or less globular, non discoïd, they are constituted by a voluminous internal gleba (fertile and vegetative veins) and a thin external peridium (made of various types of scales). Within the gleba, the hymenium is also atypical : globular asci and paraphyses are dissociated and the latter ones are prolonged in sterile veins by an arachnoïd net-work.

These former characters, as atypical as those of ascosporogenesis, asci and ascospores, let suppose that two phyletic lines could have derived from an ancestral form, the first one leading to non evolved Pezizales, the second one to variously evolved Tuberales.

MOTS CLÉS : ascocarpes, hyménium, Tubérales, *Tuber*.

La Truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum* Vitt.), espèce essentiellement française, et probablement le champignon le plus estimé en France, n'a, paradoxalement, été que fort peu étudiée d'un point de vue scientifique. En effet, après les études déjà anciennes de VITTADINI (1831), TULASNE & TULASNE (1851, 1862), CHATIN (1869, 1892), FERRY de la BELLONE

* Laboratoire de Cryptogamie, Université Pierre et Marie Curie - 9, Quai Saint-Bernard - 75252 Paris Cedex 05 - France.

** Laboratoire de Cryptogamie, Université Paul Sabatier - 118, Route de Narbonne - 31602 Toulouse Cedex - France.

(1888), DANGEARD (1895-96), FISCHER (1897), MATTIROLO (1903), cette Truffe a été longtemps délaissée par les mycologues, et c'est seulement depuis une vingtaine d'années qu'un regain d'intérêt scientifique se manifeste pour ce curieux Champignon, considéré pourtant comme l'un des fleurons de la gastronomie française.

Depuis 1869, divers travaux – dont la liste ci-après n'est pas exhaustive – permettent une meilleure approche de la biologie, si complexe, du *Tuber melanosporum*. En particulier, un certain nombre d'observations écologiques ont été rapportées (BONFANTE & al., 1971; GUILLAUME, 1972; DELMAS & POITOU, 1973; ROUQUEROL & PAYRE, 1974-1975 a et b; REBIERE, 1981; DELMAS, 1983; BARON, 1984; JACQUET, inédit). Des publications relatives à la germination des ascospores (MELENDEZ-HOWELL & CAILLEUX, 1971; GRENTE & al., 1972; ROUQUEROL & PAYRE, 1974-1975b) et à des essais de culture (FONTANA, 1971; CHEVALIER, 1972; ROUQUEROL & PAYRE, 1974-1975a; KULIFAJ, 1984), ont permis une meilleure approche des problèmes de mycorhization des racines d'arbres par le mycélium de Truffe (PALENZONA, 1969; CHEVALIER, 1972; PALENZONA & al., 1972; CHEVALIER & al., 1973; DELMAS & POITOU, 1973, 1978; GRENTE & DELMAS, 1974; ROUQUEROL & PAYRE, 1974-1975 a et b; CHEVALIER & DESMAS, 1975, 1977 a et b; CHEVALIER & GRENTE, 1978; CHEVALIER & al., 1982; JACQUET, inédit). Enfin, depuis peu, ont été effectuées des études physiologiques (KULIFAJ, 1984) et ultrastructurales (PARGUEY-LEDUC & JANEX-FAVRE, 1981; SCANNERINI & BONFANTE-FASOLO, 1982; JANEX-FAVRE & PARGUEY-LEDUC, 1983; PARGUEY-LEDUC & al., 1987).

Mais de nombreux points relatifs à la biologie du *Tuber melanosporum* demeurent encore énigmatiques et des lacunes persistent, en particulier en ce qui concerne la formation et l'évolution de la «Truffe». Rappelons que ce terme, tel qu'il est usuellement employé, ne désigne que la fructification du Champignon, dont la partie végétative (mycélium, mycorhizes) demeure dans le sol lors des prélèvements. Pour nommer cette fructification à asques, nous emploierons, suivant ainsi la terminologie de CHADEFAUD (1960, 1963), le terme d'ascocarpe plutôt que celui, ancien, de tubercule ou celui de carpophore, pourtant généralement utilisé, mais qui doit être au plus réservé aux fructifications à basides (= basidiocarpes).

D'un point de vue ontogénique et structural, l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* n'a fait l'objet que de très peu d'observations et celles-ci sont, de plus, soit très anciennes (DANGEARD, 1895-96), soit très fragmentaires (CHAZE, 1950).

C'est pourquoi, dans le cadre d'une étude générale sur la structure évolutive des Hypogés, nous nous efforçons d'éclaircir certains de ces points. Nous avons déjà apporté quelques précisions sur l'évolution de l'ascocarpe (PARGUEY-LEDUC & al., 1984) – et en particulier sur le stade apothécioïde (PARGUEY-LEDUC & al., 1985) dont l'existence n'était pas connue jusque là – ainsi que sur la formation et l'évolution des ascospores (PARGUEY-LEDUC & al., 1987). Dans le présent article, nous rapportons nos observations sur l'ascocarpe adulte,

qui, contrairement à ce qu'on pourrait penser, est fort mal connu dans le détail. Les dessins qui en ont été donnés sont très anciens (TULASNE & TULASNE, 1851, 1862; CHATIN, 1892; FISCHER, 1897) et les photographies, généralement prises sur le terrain, ne montrent les Truffes que dans leur aspect brut, à peine dégagées de leur gangue terreuse.

TECHNIQUES*

Pour reconnaître les différents **types morphologiques** d'ascocarpes, plusieurs lots de Truffes ont été examinés à la loupe binoculaire; les uns ont été récoltées par nous-mêmes**, suivant la technique déjà exposée (MONTANT & al., 1983; KULIFAJ, 1984) et les autres nous ont été aimablement procurées par la maison PEBEYRE.

Un brossage et un lavage soigneux doivent être effectués avant toute observation afin d'ôter la terre qui demeure entre les écailles et qui les masque partiellement.

La **structure des ascocarpes** a été observée *in toto* après simple section verticale axiale et, dans le détail, sur des coupes sériées. Pour ce faire, de petits cubes ont été prélevés, soit en périphérie, soit à l'intérieur de l'ascocarpe. Ils ont été fixés par le mélange de Westbrook et inclus dans la paraffine avant d'être coupés au microtome, à 5 μm d'épaisseur. Les coupes, après leur dépose sur des lames, ont été colorées à l'hématoxyline ferrique, selon la technique de Heidenhain, puis à l'éosine à 1 %. Nous avons également utilisé pour certaines études cytologiques des coupes semi-fines réalisées à l'ultramicrotome et colorées par la pyronine.

Nous rapporterons d'abord nos observations sur la morphologie et la structure de l'ascocarpe adulte, puis décrirons en détail la structure des veines de la glèbe et enfin, les trois types morphologiques d'écailles reconnus.

I. – MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DE L'ASCOCARPE ADULTE

Les Truffes que nous avons examinées pour cette étude ont été récoltées au cours des hivers 1984 et 1985 et présentaient toutes des caractères adultes, c'est-à-dire que la majorité des asques contenait déjà des ascospores mûres, brunes et échinulées. Mais si elles étaient mûres «scientifiquement» parlant, elles ne l'étaient pas obligatoirement du point de vue commercial; en effet, les ascocarpes atteignent ce stade adulte généralement plusieurs semaines, voire plusieurs mois, avant d'acquérir les qualités organoleptiques qui les rendent com-

* Nous avons plaisir à remercier M. AVNAIM, J. BIDOUX, C. FOURNIGAULT et N. JAMPSIN pour leur précieuse et amicale collaboration.

** Nous remercions vivement R. GLEIZE et L. FIOC de nous avoir laissé le libre accès à leurs truffières.

mercialisables, celles-ci n'apparaissant que très tardivement, jusqu'à 290 jours après leur formation (résultats inédits).

1) **Aspect morphologique.**

L'ascocarpe adulte (Fig. 1) noir mat et verruqueux, présente une forme parfois globuleuse (Fig. 1, A), mais le plus souvent oblongue (Fig. 1, B) ou réniforme. En vieillissant, il devient fréquemment bosselé, quelquefois même difforme, du fait, d'une part de l'alternance d'humidification et de dessication entraînant une irrégularité dans la croissance, et d'autre part des différences de

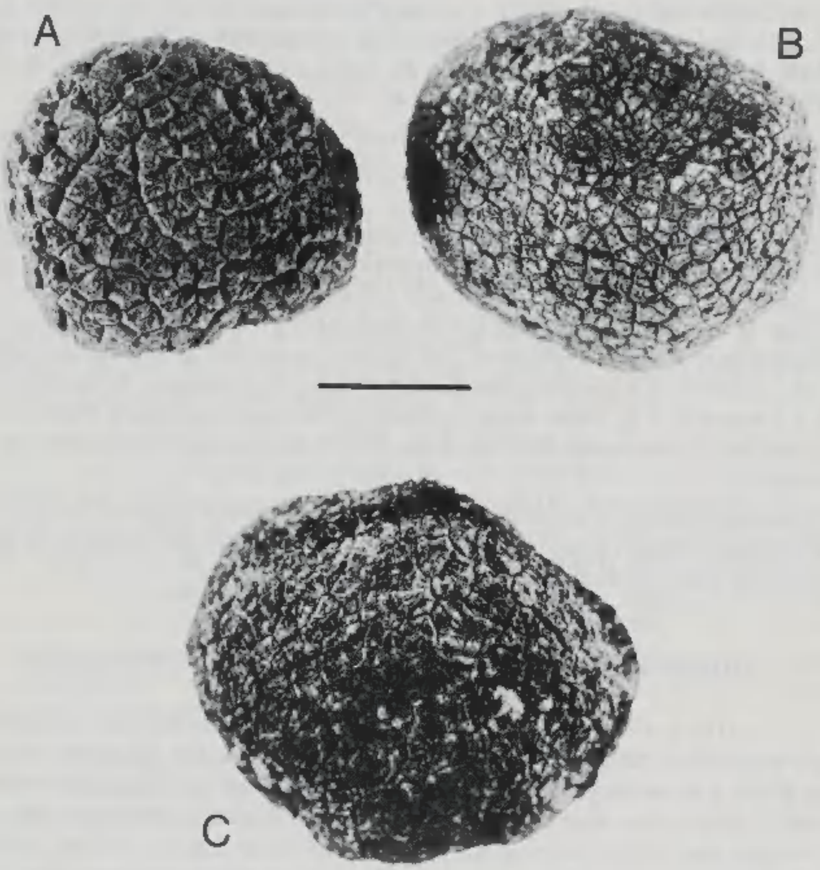


Fig. 1 – Différents types morphologiques d'ascocarpes. A. Ascocarpe (poids : 4,55 gr) à grosses écailles pyramidales; B. Ascocarpe (poids : 6,65 gr) à petites écailles pyramidales; C. Ascocarpe (poids : 8,38 gr) à grandes écailles planes. Échelle : 1 cm.

Fig. 1 – Different morphological ascocarp types. A. Ascocarp (weight : 4,55 gr) with big pyramidal scales; B. Ascocarp (weight : 6,65 gr) with small pyramidal scales; C. Ascocarp (weight : 8,38 gr) with large flat scales. Scale : 1 cm.

dureté rencontrées dans le sol où il se développe. Régulier dans les terrains meubles, il est beaucoup plus bosselé lorsqu'il rencontre des obstacles (pierres, racines, etc...). A l'état adulte, son diamètre varie de quelques millimètres à plusieurs centimètres et son poids d'un demi gramme à plusieurs centaines de grammes.

Son point d'attache sur le mycélium générateur est invisible même sur les plus jeunes ascocarpes récoltés (MONTANT & KULIFAJ, 1985), mais la localisation de sa partie inférieure est néanmoins assez aisée du fait que les écailles y sont nettement plus petites. Il est recouvert par une enveloppe externe noire ou péridium, constituée par la juxtaposition de nombreuses écailles (appelées également pointes, grains, diamants, verrues, etc.).

L'illustration la plus précise des «tubercules» (c'est-à-dire des ascocarpes) et de leurs «verrues» est celle de CHATIN (1892) qui reconnaît et figure sous la même espèce *T. melanosporum*, trois variétés dont deux seulement appartiennent à cette espèce : l'une classique et l'autre à grosses verrues; la troisième (var. *moschatum*) a été depuis confondue avec une forme de l'espèce *T. brumale*. Peu d'observateurs ont noté ces différences dans la taille des écailles; toutefois, RUFFIANDIS (1967) distingue des «verrues très apparentes et aussi très petites au point que le champignon semble presque lisse». MARCHAND (1971) pense que la différence dans la taille des écailles est en relation avec la nature du terrain dans lequel se développent les ascocarpes; ainsi, les «verrues (seraient) fines en sol meuble, plus grossières en sol rocailleux». Certains trufficulteurs affirment que les truffes à petites écailles se récolteraient sous les chênes verts, et celles qui ont de grosses écailles apparaîtraient sous les chênes pubescents : actuellement, aucune observation rigoureuse ne permet de vérifier le bien fondé de ces dires.

L'ensemble de nos observations sur les écailles, rapportées en détail dans la troisième partie de ce travail, nous a amenés à ranger les divers échantillons dans trois types morphologiques (Fig. 1) suivant que ces écailles sont grosses et pyramidales (A), petites et pyramidales (B) ou grandes et planes (C).

Il faut enfin signaler qu'au cours de nos récoltes, nous avons prélevé, sous un même chêne à Richerenche (près de Valréas, dans le Vaucluse), et ce régulièrement depuis le début de la production, des ascocarpes de *T. melanosporum* qui demeurent blancs sans que leur parfum soit apparemment altéré. Il est permis de penser qu'il s'agit peut-être d'un cas d'albinisme. Une truffière située à Mérindol (Vaucluse) produirait également cette variété de *Tuber melanosporum*.

2) Structure.

Pour présenter la structure de la Truffe, divers auteurs (CHATIN, 1892; FISCHER, 1897; GHEDUZZI, in CERUTI, tab. 34, 1960) ont donné, à côté d'un dessin de l'ascocarpe *in toto*, un autre dessin de la même Truffe coupée en deux verticalement; récemment, DELMAS (1983) a illustré la couverture d'un recueil consacré à la Truffe et sa culture par une très belle photographie en couleur de la section verticale d'un ascocarpe.

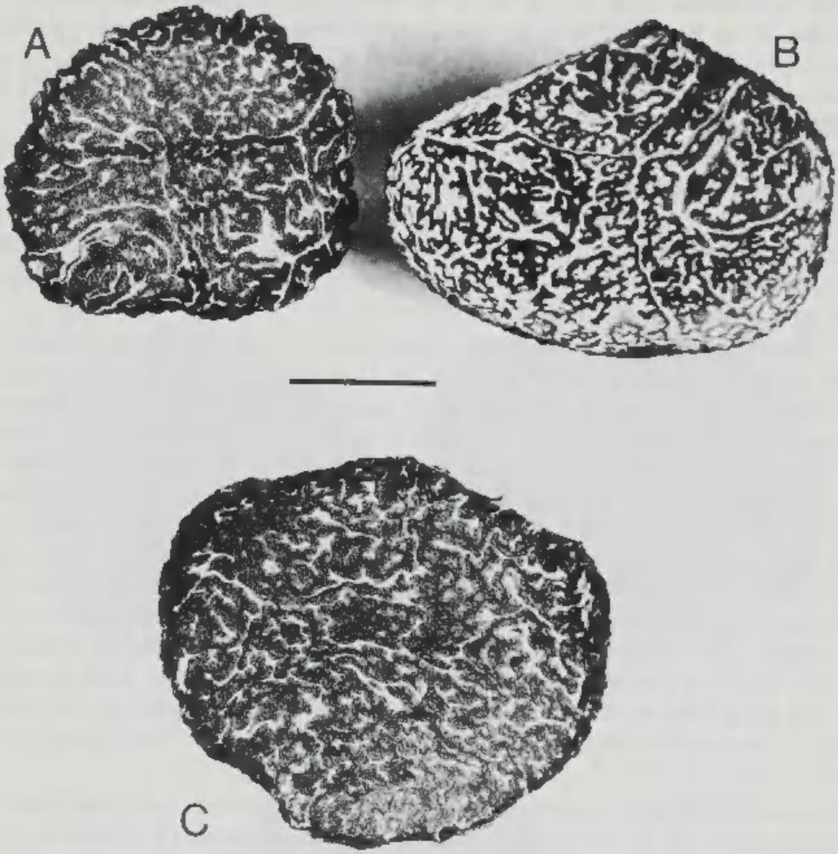
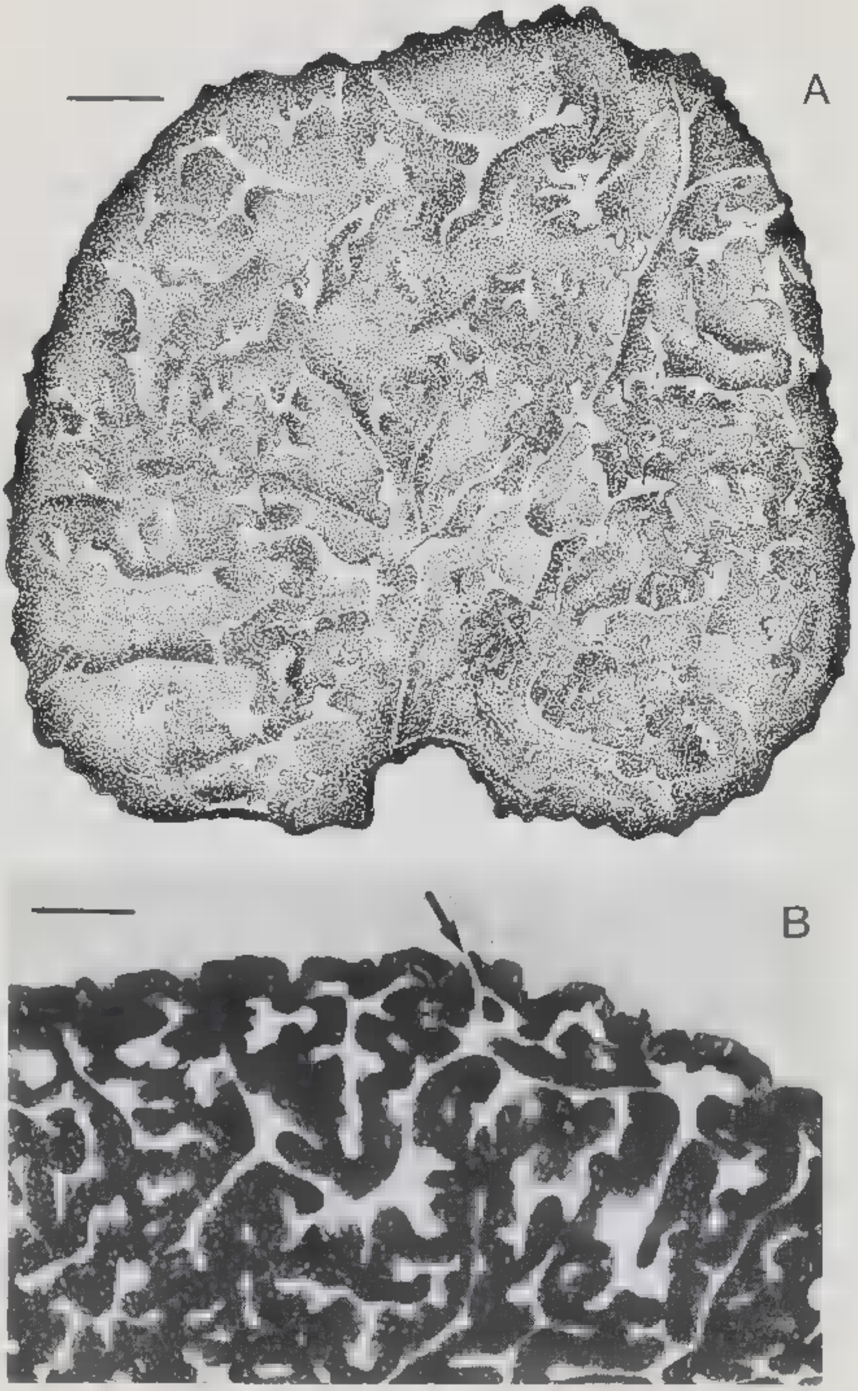


Fig. 2 — Coupes longitudinales des ascocarpes de la figure 1. A. Ascocarpe à grosses écailles pyramidales; B. Ascocarpe à petites écailles pyramidales (l'ascocarpe a été légèrement entaillé en haut à gauche lors de la récolte); C. Ascocarpe à grandes écailles planes. Échelle : 1 cm.

Fig. 2 — Longisections of ascocarps illustrated in the fig. 1. A. Ascocarp with big pyramidal scales; B. Ascocarp with small pyramidal scales (the ascocarp has been lightly notched, upper left, when collected); C. Ascocarp with large flat scales. Scale : 1 cm.

Fig. 3 — A. Coupe longitudinale d'un ascocarpe pourvu à sa partie inférieure d'une dépression, vers laquelle convergent quelques veines stériles. Échelle : 3 mm. B. Détail de la partie périphérique de cet ascocarpe (la flèche indique l'émergence d'une veine stérile au milieu d'une écaille). Échelle : 1,2 mm.

Fig. 3 — A. Longisection of an ascocarp with sterile veins converging into a basal hollow. Scale : 3 mm. B. Peripherical portion of the same ascocarp (arrow shows a sterile vein opening in the middle of a scale). Scale : 1,2 mm.


A
B

En coupe, l'ascocarpe entièrement charnu, d'aspect cérébriforme, apparaît formé de deux parties non séparables l'une de l'autre (Fig. 2 et 3, A) :

a) à l'intérieur, occupant la quasi-totalité du volume, une **glèbe** (ou gleba) noir-violacé, finement granuleuse, hétérogène, à aspect marbré dit «Grain de Poudre» (PAGNOL, 1973). La glèbe est essentiellement constituée par une partie fertile sombre divisée en secteurs par d'étroites veines claires qui rougissent légèrement à l'air. Rappelons que dans un précédent article (PARGUEY-LEDUC & al., 1984), nous avons nommé respectivement ces dernières, veines stériles et les plages fertiles qui épousent leurs sinuosités, veines fertiles. Mais elles ont reçu divers autres noms; ainsi pour les stériles : externes («venae externae» de VITTADINI, 1831; FISCHER, 1897; GAÜMANN, 1949), blanches (MALENÇON, 1938) ou claires (MOREAU, 1953), aérifères (DANGEARD, 1895-96; MALENÇON, 1938; CHADEFAUD, 1960), pseudo-veines (MARCHAND, 1971) et pour les fertiles : internes («venae internae» de VITTADINI, 1831), fructifères (DANGEARD, 1895-96), sombres ou obscures (MALENÇON, 1938; MOREAU, 1953).

A propos de la disposition des veines stériles, MALENÇON (1938) constate une «disparition complète de (leur) convergence» et range en conséquence le *Tuber melanosporum* dans son dernier type (n° 5, comprenant également les *Tuber aestivum et brumale*). En outre, cet auteur signale que les «veines s'ouvrent çà et là sans ordre aucun, à la périphérie de la plante».

Nous avons vérifié ces affirmations : les veines stériles, sinueuses, très ramifiées et non convergentes, forment un véritable labyrinthe, et se développent généralement sans direction privilégiée (Fig. 2); mais il demeure parfois une discrète convergence vers une dépression basale centrale (Fig. 3, A). Du fait de la présence d'un feutrage mycélien dans cette dépression, il s'agit probablement du point d'attache de l'ascocarpe sur le mycélium générateur, plutôt que du vestige de la cavité centrale reconnue dans le stade apothécioïde (PARGUEY-LEDUC & al., 1985). Cette légère convergence des veines stériles permet de penser que le *Tuber melanosporum* illustrerait un cas intermédiaire entre le type n° 5 et le type n° 4 de MALENÇON (1938) où la «convergence basilaire est plus ou moins atténuée». Quant à l'ouverture des veines sur l'extérieur, nous avons fréquemment observé des cas où elles se développent effectivement jusqu'au péridium qu'elles percent (fig. 3, B et 11, A, flèches), entrant ainsi en contact direct avec l'air. Du fait qu'elles emprisonnent ainsi de l'air, elles apparaissent sous forme de cordons plus souvent blancs, voire nacrés, que jaunâtres. De place en place, ces cordons s'élargissent en plages blanches irrégulières (Fig. 3, A et B); ceci est dû au fait que les veines stériles sont des boyaux irrégulièrement bosselés et non des cylindres réguliers.

Lorsque l'ascocarpe a atteint sa pleine maturité, les veines stériles, de plus en plus fortement comprimées par la masse croissante des asques (jusqu'à 6.000.000/g !), développés dans les veines fertiles, tendent à s'estomper et elles apparaissent alors sous forme de cordons étroits grisâtres; leur cavité s'est en effet collapsée, chassant ainsi l'air qui y était contenu.

Les veines fertiles, brun-violet à noir, comblent l'espace situé entre les veines

stériles et en épousent par conséquent les sinuosités (Fig. 2 et 3). Du fait de la multiplication des asques à ascospores brunes (des observations récentes nous permettent toutefois d'affirmer que les ascospores n'atteignent pas toutes le même degré de mélanisation), et également de la mélanisation des parois des éléments non reproducteurs, ces veines fertiles deviennent de plus en plus sombres et volumineuses au fur et à mesure du vieillissement de l'ascocarpe; à un stade de parfaite maturation elles constituent la quasi-totalité de la glèbe, devenue très noire.

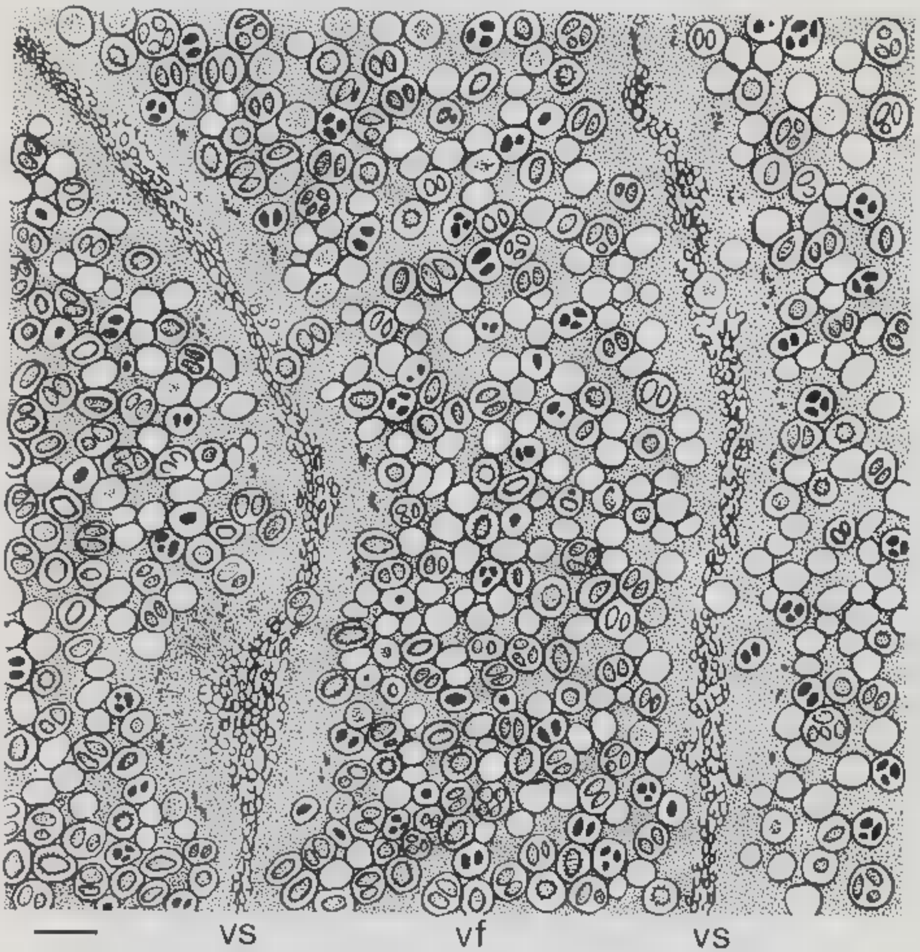
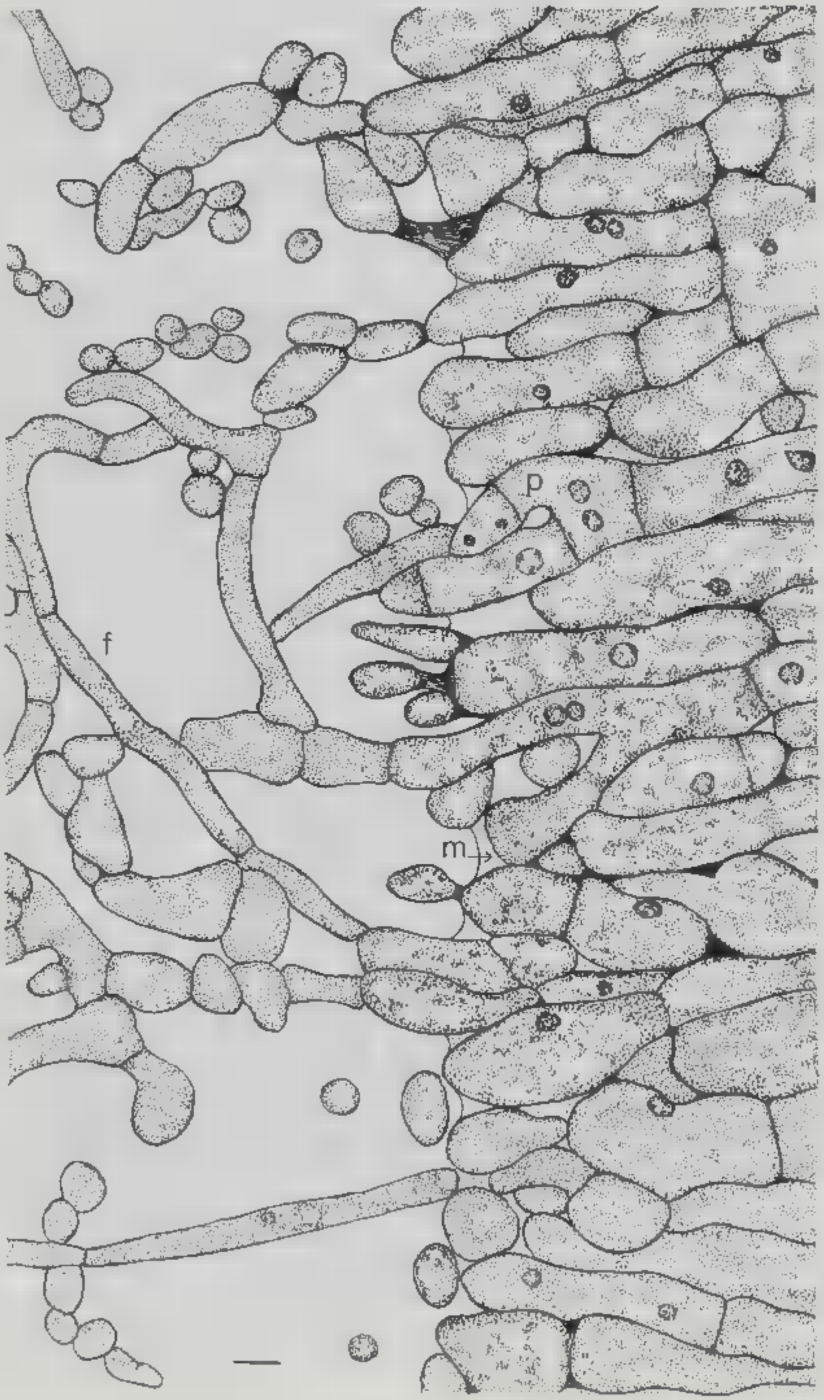


Fig. 4 — Détail de la glèbe (vf, veine fertile bourrée d'asques; vs, veines stériles écrasées). Échelle : 100 µm. Coloration : hémoxyline ferrique-éosine.

Fig. 4 — Portion of the gleba (vf : fertile vein filled with asci; vs: squashed sterile veins). Scale : 100 µm. Coloration : iron-hematoxylin.


p
f
m

b) à l'extérieur, formant une enveloppe continue, un **péridium** mince et sombre, constitué par les écailles protectrices qui, suivant le groupe morphologique auquel elles appartiennent, sont plus ou moins proéminentes et séparées par des sillons soit très profonds (Fig. 2, A), soit au contraire peu accusés (Fig. 2, B et C).

Sous-jacent au péridium est souvent décrit un tissu de soutien ou hypothécium qui, au cours de l'organogénèse, subirait des plissements et serait à l'origine des veines fertiles contournées. Mais en fait, en se reportant au stade apothécioïde (PARGUEY-LEDUC & al., 1985), on constate que ce tissu, de nature para-plectenchymateuse, est tout-à-fait semblable aux écailles et qu'il correspond en réalité à la base confluente de celles-ci.

II. – STRUCTURE DES VEINES DE LA GLÈBE

Comme nous l'avons vu précédemment (Fig. 2 et 3), la glèbe est formée (Fig. 4) de veines stériles (**vs**) et de veines fertiles (**vf**) contenant les asques.

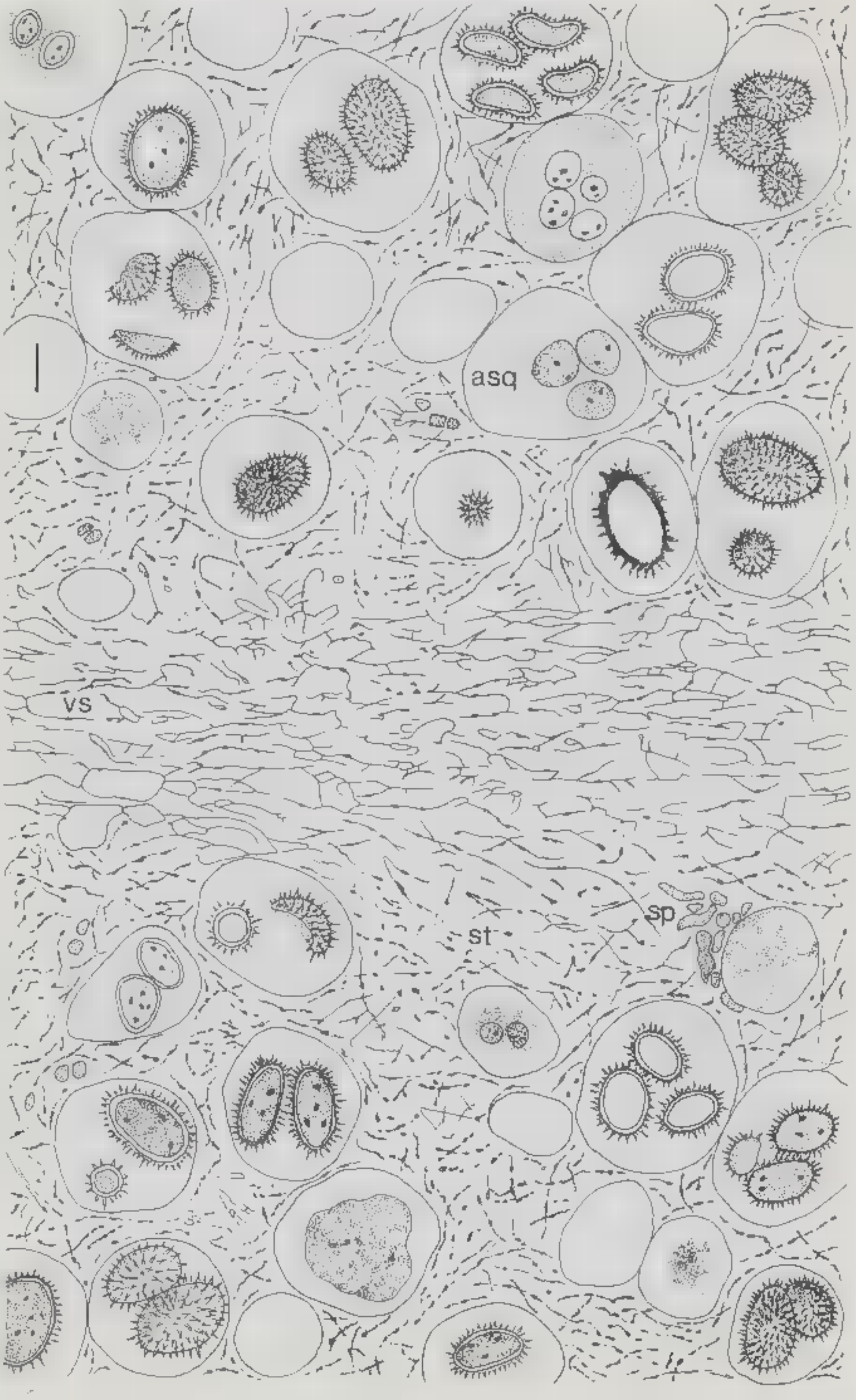
1. **Veines stériles** : lorsqu'elles ne sont pas encore trop comprimées, les veines stériles ont une structure parfaitement caractérisée. CHATIN, dès 1869, les définit ainsi «d'abord blanchâtres, puis rougeâtres et bordées, sur chaque côté, par une ligne pellucide». Cet auteur avait ainsi reconnu leurs deux constituants (Fig. 5) : la ligne pellucide qui entoure complètement la veine correspond à une palissade de files cellulaires (**p**) tandis que la veine elle-même est occupée par un réseau de filaments (**f**).

Par analogie avec la palissade de filaments stériles observée dans l'hyménium des Discomycètes typiques, nous les avons qualifiés, après TULASNE & TULASNE (1862) et CHADEFAUD (1960) de «paraphyses» (PARGUEY-LEDUC & al., 1984). Simples ou bifurquées, elles sont constituées d'une file de cellules généralement uninucléées, parfois binucléées lorsqu'elles sont sur le point de se diviser transversalement. Certaines de leurs cellules distales produisent, dans la cavité de la veine stérile, des filaments pluricellulaires fins, ramifiés et anastomosés, organisés en un réseau arachnoïde (**f**). MALENÇON (1938) note que «l'extrémité (des paraphyses) s'allonge démesurément... (pour) constituer un tissu aérifère blanc qui emplit les espaces de la glèbe». En réalité, il semble plutôt que les filaments du réseau soient émis par une sorte de bourgeonnement de la cellule distale des paraphyses. Ces filaments ne sont pas sans rappeler les pseudo-paraphyses anastomosées ou un plexus paraphysoïde, mais ils ne peuvent être interprétés comme tels puisque nés secondairement à partir des paraphyses elles-mêmes. Il s'agit en fait d'une formation très spécifique, propre aux Tubérales,

---

Fig. 5 – Détail d'une veine stérile non encore écrasée (f, filaments du réseau arachnoïde; **m**, mucus; **p**, paraphyses). Échelle : 2 μm. (d'après une micrographie électronique).

Fig. 5 – Part of a not yet squashed sterile vein (f, arachnoid net-work; **m**, mucus; **p**, paraphyses). Scale : 2 μm. (after an electron micrograph).


asq
vs
sp
st

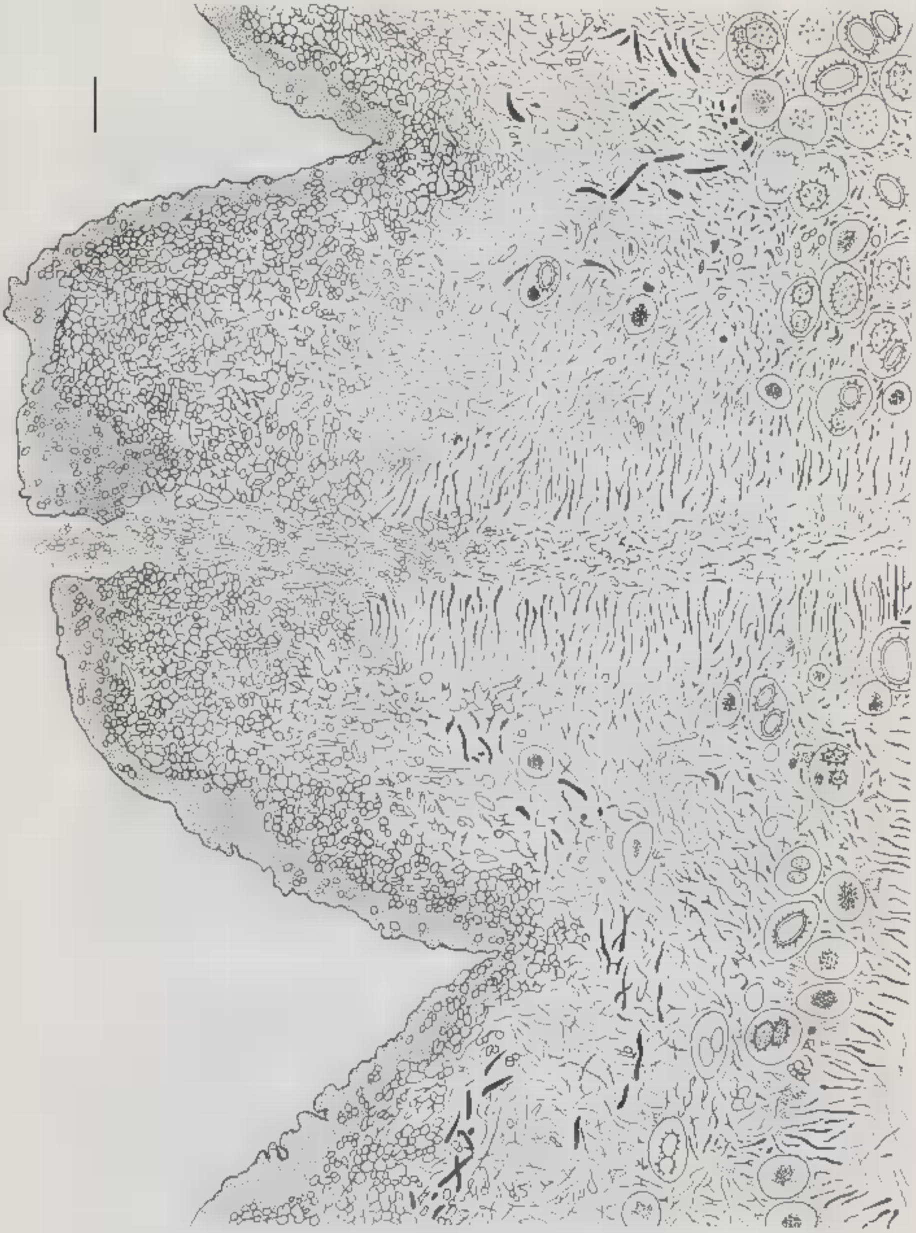
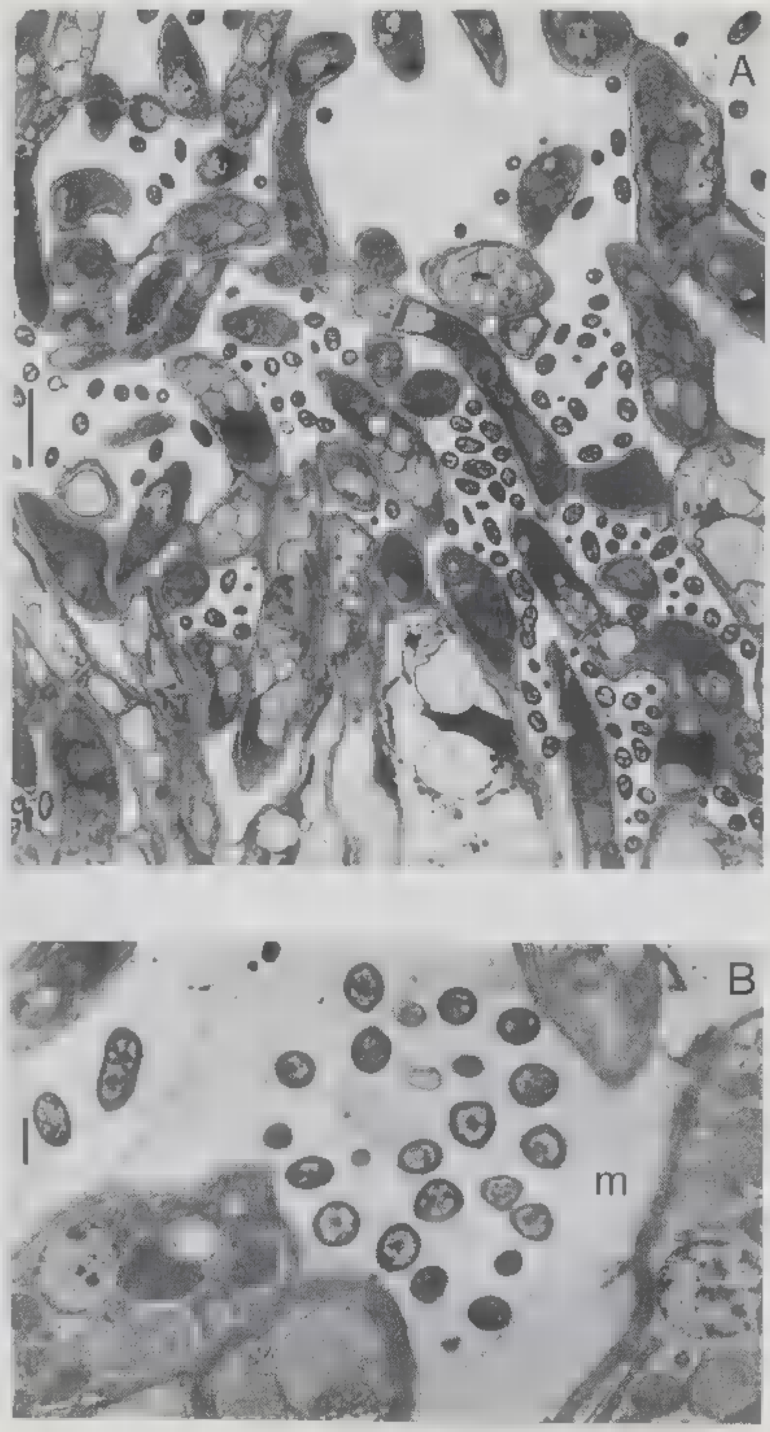


Fig. 6 — Détail d'une veine stérile (vs) écrasée entre deux veines fertiles. asq : asque; sp : éléments sporophytiques; st : filaments stériles. Échelle : 20 μm. Coloration : hématoxyline ferrique-éosine.

Fig. 6 — Portion of a sterile vein (vs) squashed between two fertile ones (asq : ascus; sp : sporophytic apparatus; st : sterile threads). Scale : 20 μm. Coloration : iron hematoxylin.

Fig. 7 — Coupe longitudinale d'une grosse écaille pyramidale montrant en son centre l'émergence d'une veine stérile. Échelle : 50 μm. Coloration : hématoxyline ferrique-éosine.

Fig. 7 — Longitudinal section of a big pyramidal scale, showing the opening of a sterile vein along its axis. Scale : 50 μm. Coloration : iron hematoxylin.


A
B
m

et que l'on retrouve essentiellement chez certaines autres espèces de *Tuber*, mais également dans la cavité unique des *Genea* ou dans les cavités multiples des *Pachyphloeus*.

Les paraphyses, ainsi que les éléments du réseau arachnoïde, peuvent être réunis par un voile de mucus (m) (Fig. 5 et 8, B), déjà reconnu par DANGEARD (1895-96) qui note que «les filaments sont plongés dans une masse gélatineuse continue».

Comme nous l'avons dit, lorsque l'ascocarpe vieillit, ces veines stériles, de plus en plus fortement comprimées, tendent à être écrasées et elles se réduisent alors à de minces cordons (vs) (Fig. 4 et 6) où le réseau, bien que déformé, est encore reconnaissable, mais où, par contre, la palissade de paraphyses est devenue indistincte.

L'extrémité des veines stériles s'interrompt généralement brusquement dans la partie sous-jacente des écailles, mais, parfois elle s'ouvre sur l'extérieur par un petit orifice percé au milieu d'une écaille (Fig. 3, ■ et Fig. 11, A, flèches), plutôt que dans le fond d'un sillon. La figure 7 illustre ce phénomène : la veine encore parfaitement reconnaissable avec sa palissade bordante et son tissu arachnoïde interne, se dirige vers la surface en perçant la partie centrale de l'écaille, entrant ainsi en contact avec le milieu ambiant. Au niveau du tissu para-plectenchymateux de l'écaille, les différents tissus se confondent par un phénomène de convergence de structure : la palissade de paraphyses devient indistincte et le tissu arachnoïde, tout en gardant une orientation parallèle à l'axe de la veine, prend également un aspect voisin du tissu de l'écaille. Vers l'extérieur, au niveau du cortex sombre de l'écaille, lui-même lysé, le tissu arachnoïde se désagrège et tend à disparaître complètement.

Cette disposition des veines stériles est très importante du point de vue physiologique, car elle permet aux paraphyses, bien que situées à l'intérieur même de l'ascocarpe, d'être en contact avec l'air ambiant au même titre que celles des apothécies des Discomycètes typiques.

Une conséquence de cette ouverture sur l'extérieur est la présence fréquente de bactéries qui envahissent les mailles du réseau arachnoïde (Fig. 8, A), mais sans toutefois pénétrer à l'intérieur des cellules : elles demeurent en effet nettement localisées à l'extérieur, très souvent retenues dans des poches creusées dans le mucus (m) (Fig. 8, B). Ces bactéries ne sont pas connues; au laboratoire, nous les avons vu proliférer si on ensemence (en vue d'obtenir un mycélium) un fragment d'ascocarpe jeune sur milieu stérile; inversement, un fragment de truffe mûre ensemencé n'entraîne pas forcément la formation de colonie bactérienne. Malgré nos recherches sur la formation de l'arôme nous ne sommes

---

Fig. 8 – A. Veine stérile envahie par les Bactéries. Échelle : 2 μm. B. Détail d'une poche creusée dans le mucus (m) et contenant des Bactéries. Échelle : 0,5 μm.

Fig. 8 – A. Bacteria invading a sterile vein. Scale : 2 μm. B. Bacteria in a mucous pocket (detail). Scale : 0,5 μm.

pas encore en mesure de dire si la maturation correspond au début de la putréfaction et si, d'autre part, les bactéries (et les moisissures) qui se manifestent au cours de la putréfaction (mais qui ne détruisent pas les ascospores) sont les mêmes que celles qui sont présentes dans le jeune ascocarpe.

2. **Veines fertiles** : ces veines fertiles (Fig. 6) sont composées de filaments stériles entremélés (st), d'éléments sporophytiques (**sp**) et d'asques (**asq**); ces trois types d'éléments apparaissent très clairement sur des coupes semi-fines pratiquées à l'ultramicrotome et colorées à la pyronine (Fig. 9). Les filaments stériles fins n'ont aucune orientation privilégiée et sont ainsi coupés longitudinalement, transversalement ou obliquement. Ils forment un réseau lâche dont les mailles sont occupées par les cellules de l'appareil sporophytique, beaucoup plus volumineuses, et très chromophiles.

Primitivement situé dans la partie axiale du réseau, l'appareil sporophytique se développe ensuite jusque dans la zone sous-jacente aux paraphyses, puis, dans les ascocarpes totalement mûrs, il envahit en outre la zone située à la base des

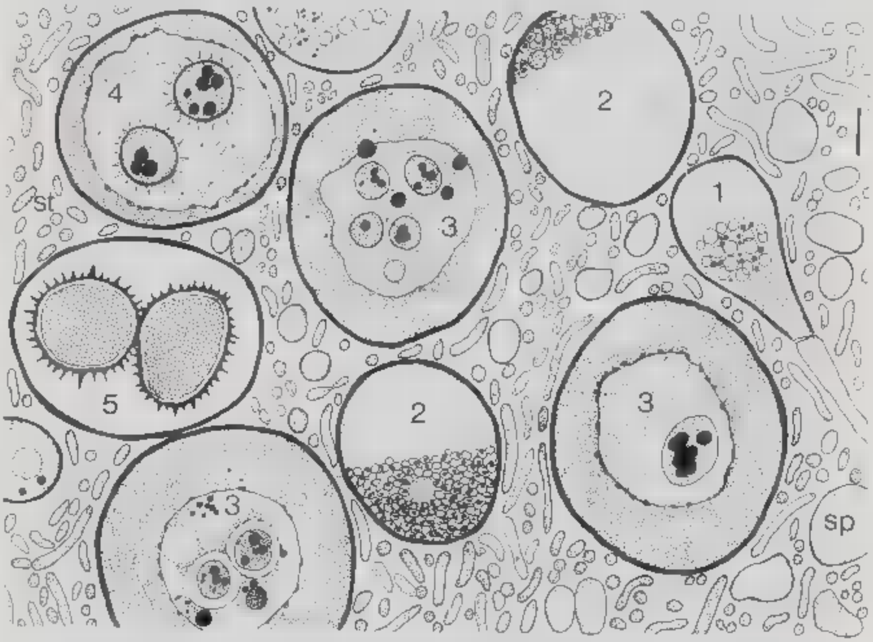


Fig. 9 – Détail d'une veine fertile : outre les filaments de bourrage stériles (st), sont visibles les éléments de l'appareil sporophytique (sp) et les asques à tous stades de développement (1 à 5, stades successifs). Échelle : 10 μm. Coloration à la pyronine.

Fig. 9 – Portion of a fertile vein within embedding threads (st) sporophytic apparatus (sp) and asci at different stages of development (successively 1 to 5) are visible. Scale : 10 μm. Coloration : pyronine.

écailles. L'apparition des asques progresse suivant la même voie : d'abord situés au milieu du réseau, ils occupent ensuite la totalité de la zone fertile, puis la périphérie de la glèbe où on peut même les retrouver jusque dans le cortex des écailles (a, Fig. 14). L'appareil sporophytique produisant les asques progressivement, on peut observer simultanément, sur une même coupe, tous leurs stades de développement (Fig. 9). Le plus jeune (1), encore rattaché à son hyphe ascogène génératrice, contient du glycogène, des vacuoles et des globules lipidiques. Au stade suivant (2), les asques présentent une stratification marquée de leurs constituants comme c'est la régle générale chez les *Tuber* (JANEX-FAVRE & PARGUEY-LEDUC, 1976; PARGUEY-LEDUC & JANEX-FAVRE, 1977, 1981; BERTA & FUSCONI, 1983) : alors que le glycogène occupe la volumineuse zone inférieure, les vacuoles, devenues nombreuses et contenant toutes une masse globuleuse chromophile, sont groupées dans la partie sommitale de l'asque où elles entourent un ou plusieurs noyaux. Le stade 3 permet de suivre l'évolution des ascospores (de une à quatre dans chaque asque) que nous ne rappellerons pas ici, ces observations ayant fait l'objet d'une publication récente (PARGUEY-LEDUC & al., 1987). Les ascospores sont alors regroupées au centre de l'asque et entourées par le sac post-sporal, particulièrement bien mis en évidence, ainsi que les globules qui y sont rattachés, par la pyronine. Puis apparaît l'ornementation sporale (4) tandis que le sac post-sporal tend à s'estomper. Au stade adulte (5), ce dernier a complètement disparu et les ascospores, devenues très volumineuses, brunes et nettement échinulées, occupent la quasi totalité de l'asque.

III. – DIFFÉRENTS TYPES D'ÉCAILLES

Les centaines d'écailles noires constituant le péridium adulte ont une base polygonale et sont toujours pyramidales, au moins dans les 2/3 inférieurs. Elles ont généralement 5 ou 6 pans convexes séparés par des bourrelets cannelés et leur sommet, contrairement à ce qu'indique MALENÇON (1938) dans sa clé dichotomique, est fréquemment déprimé (Fig. 10 et 12, A). Certaines d'entre elles, en principe les plus grosses, sont traversées par de profondes fentes verticales passant par le centre du sommet; elles indiquent le début d'une scission longitudinale qui aboutira à leur dédoublement. Cette division active des écailles permet au péridium de demeurer continu malgré le fort accroissement en volume de la glèbe.

Comme nous l'avons dit précédemment, trois types morphologiques d'écailles peuvent être reconnus :

a) grosses écailles pyramidales : c'est le cas de celles qui recouvrent l'ascocarpe photographié sur la figure 1, A. Elles sont volumineuses, de 2 à 3 mm de largeur en général (Fig. 10, A), mais pouvant atteindre 4 mm (Fig. 10, B) et sont séparées par de profonds sillons. La base des écailles est parfois pentagonale, plus généralement hexagonale. Le sommet de la pyramide est souvent déprimé et forme un cratère dont le centre est lui-même creusé en une petite cuvette

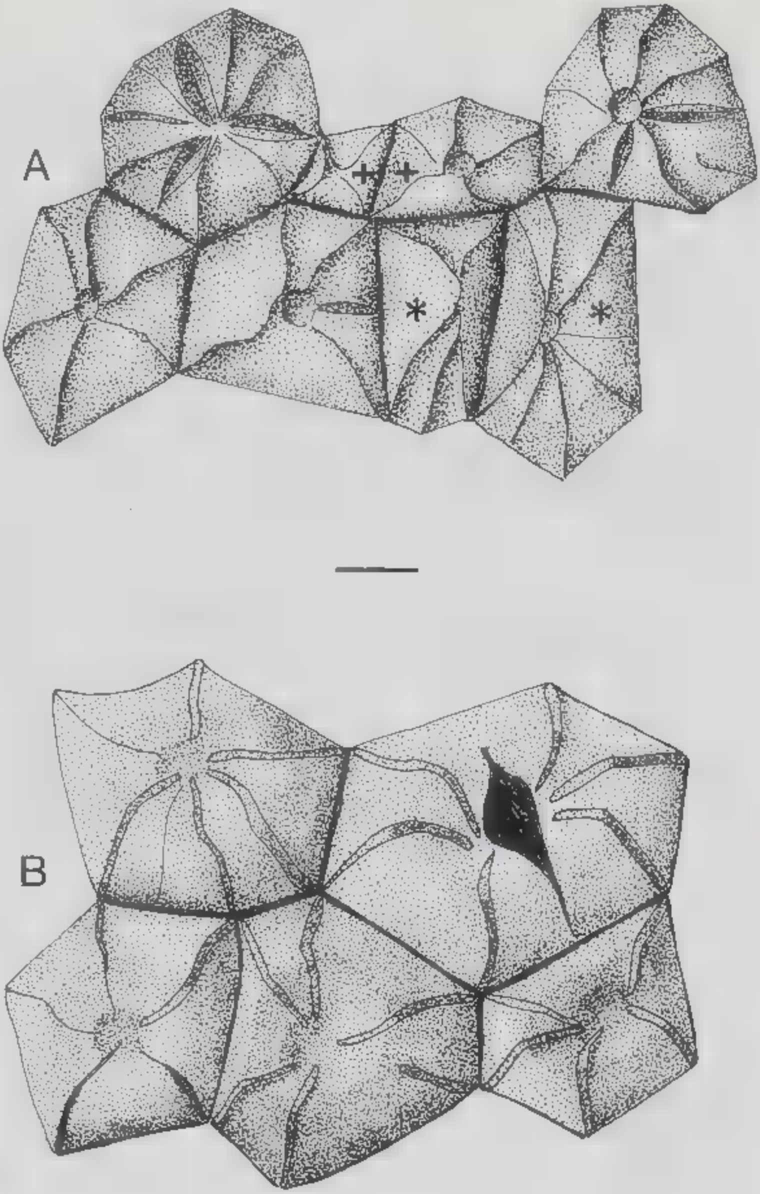


Fig. 10 – A et B. Grosses écailles pyramidales. Échelle : 1 mm.
Fig. 10 – A and B. Big pyramidal scales. Scale : 1 mm.

où viennent se terminer les bourrelets délimitant les pans (Fig. 10, B). Sur certaines écailles sont visibles les fentes de division dont les lèvres tendent à s'écar-

ter, séparant ainsi les deux nouvelles écailles qui se reconstitueront ensuite indépendamment : deux couples d'écailles ainsi divisées sont figurés en 10 A (+ et *).

En coupe (Fig. 7 et 11), apparaissent nettement les profonds sillons qui séparent ces grosses écailles les unes des autres; la forme de ces dernières est soit triangulaire (Fig. 11, A), soit plus ou moins hémisphérique (Fig. 11, B).

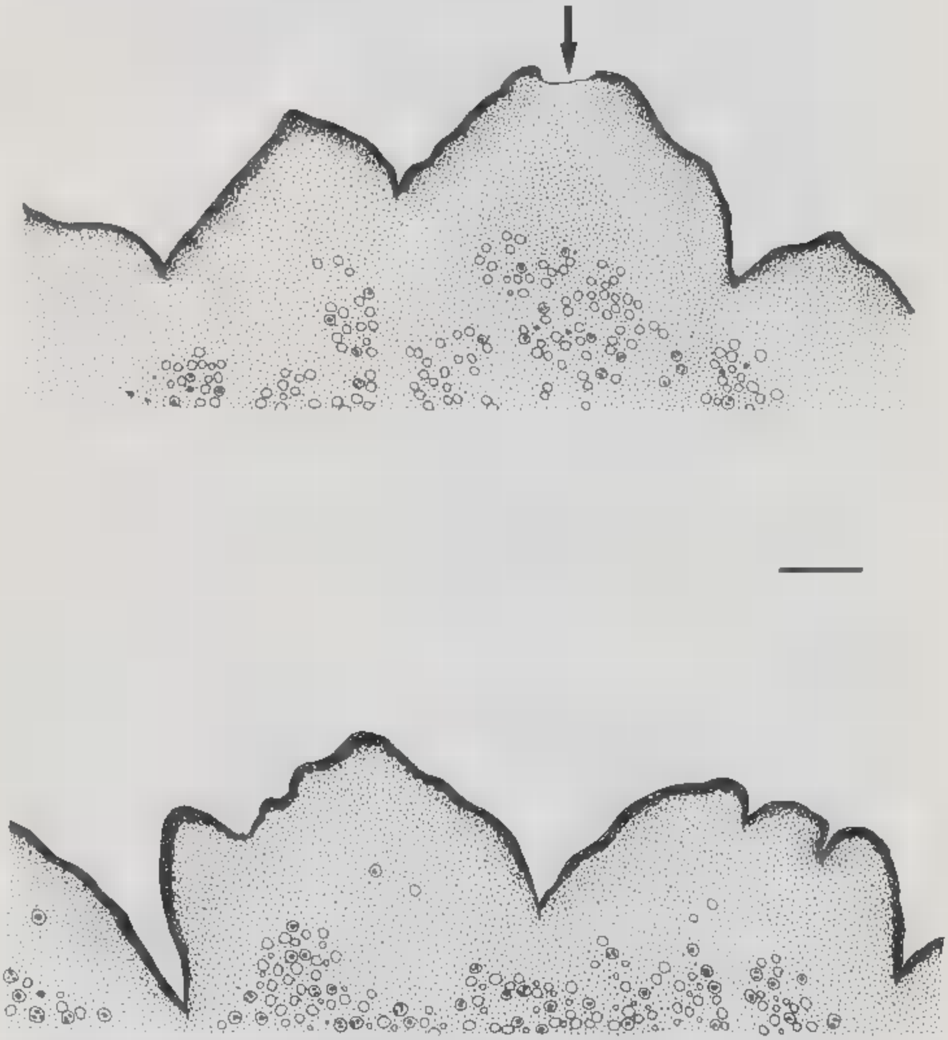


Fig. 11 – A ■ B. Coupes longitudinales de grosses écailles pyramidales (la flèche indique l'émergence d'une double veine stérile). Échelle : 0,50 μm.

Fig. 11 – A and B. Longisections of big pyramidal scales (the arrow indicates the opening of a double sterile vein). Scale : 0,50 μm.

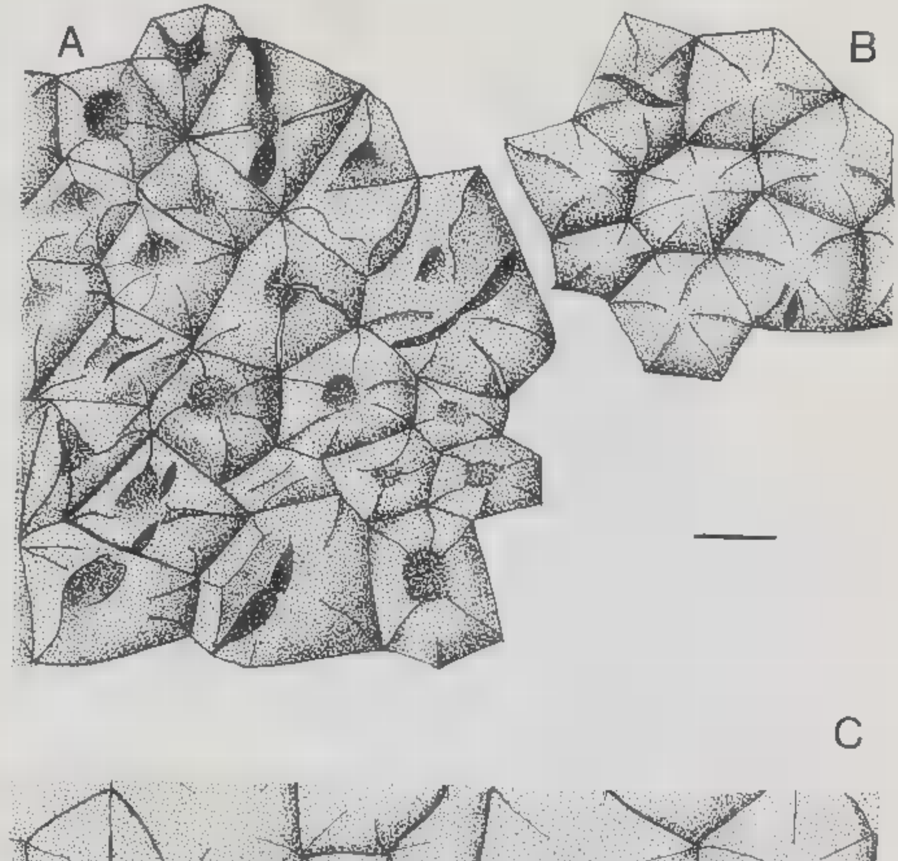


Fig. 12 – A. Petites écailles pyramidales à sommet déprimé. – B. Petites écailles pyramidales à sommet non déprimé – C. Grandes écailles planes. Échelle : 1 mm.

Fig. 12 – A. Small pyramidal scales with hollowed tops. – B. Small pyramidal scales with flat tops. – C. Large flat scales. Scale : 1 mm.

b) petites écailles pyramidales : ce sont elles qui constituent le péridium de l'ascocarpe photographié sur la figure 1. B. Leur forme est tout à fait semblable à celle des grosses écailles pyramidales. mais leur taille est nettement inférieure, atteignant rarement plus d'1 mm 1/2 de largeur. Elles ont généralement une

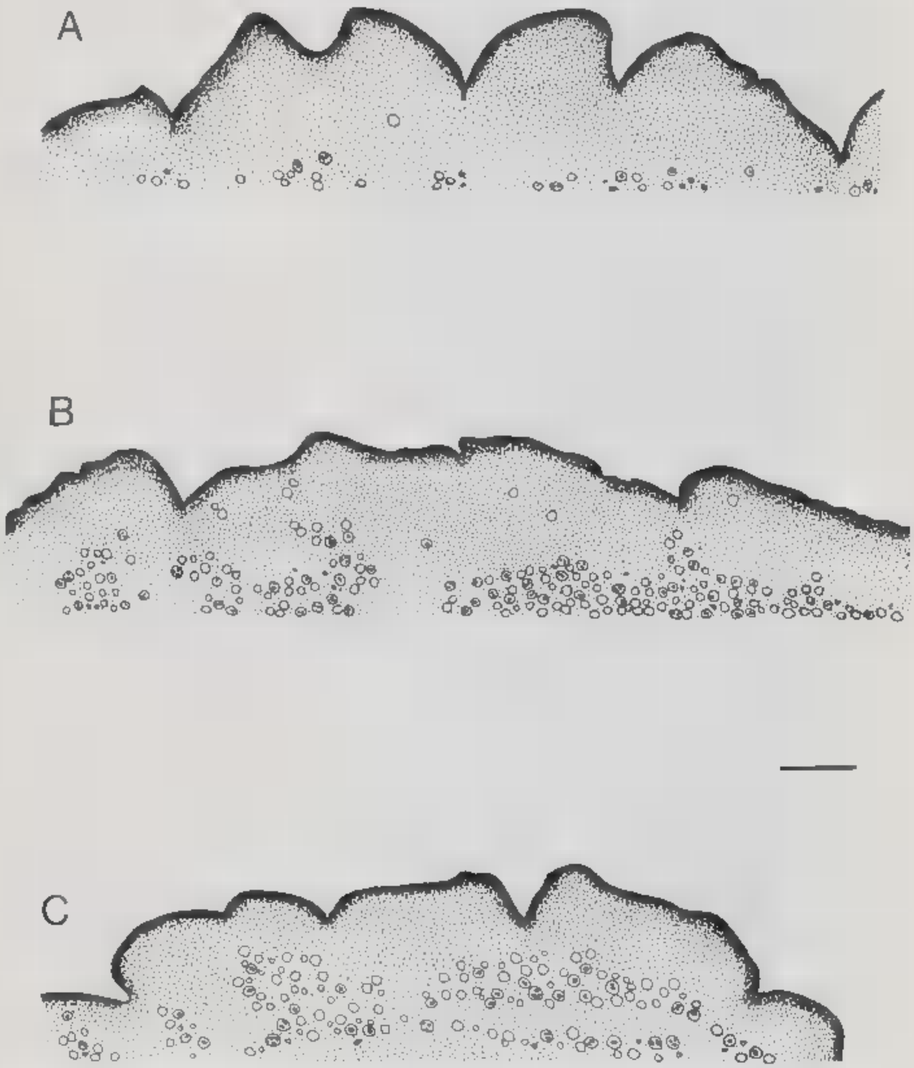


Fig. 13 – A. Coupe longitudinale de petites écailles pyramidales. – B. Coupe longitudinale de grandes écailles planes. – C. Coupe longitudinale d'écailles intermédiaires entre les deux types précédents. Échelle : 0,50 µm.

Fig. 13 – A. Longisection of small pyramidal scales. – B. Longisection of big flat scales. – C. Longisection of scales intermediate between the two previous types. Scale : 0,50 µm.

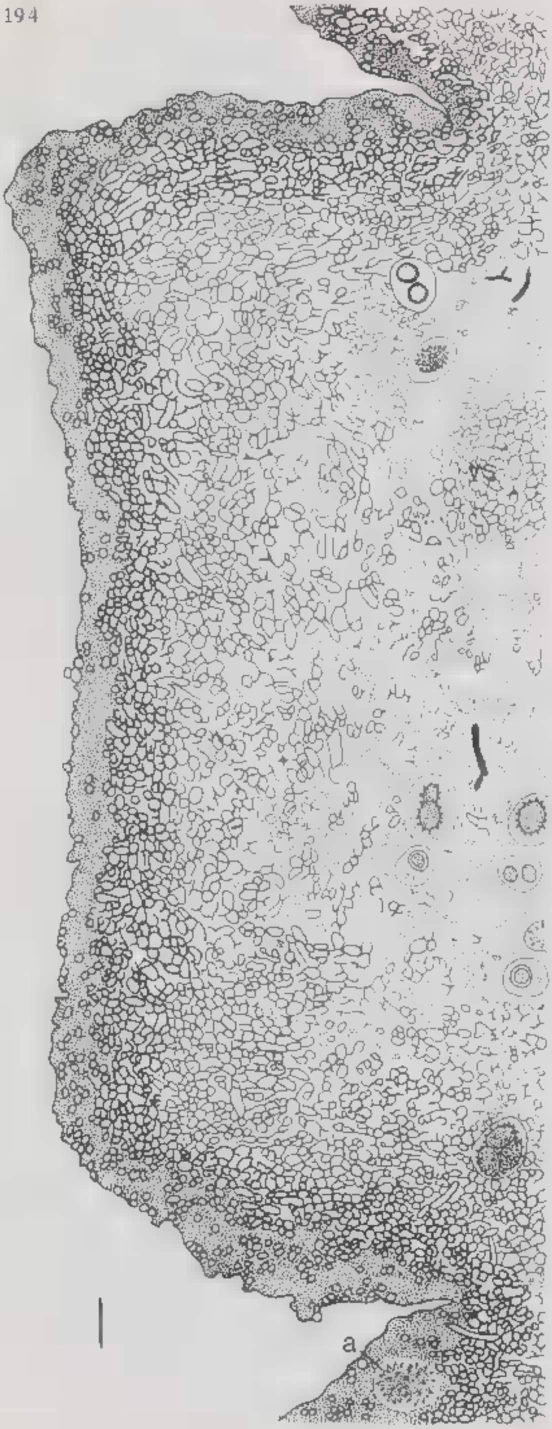


Fig. 14 – Coupe longitudinale d'une écaille plane (a : asque logé dans le cortex; vs : extrémité d'une veine stérile). Échelle : 50 μm. Coloration : hématoxyline ferrique-éosine.

Fig. 14 – Longisection of a flat scale (a : ascus set in the cortex; vs : tip of a sterile vein). Scale : 50 μm. Coloration : iron hematoxylin.

forme de pyramide surbaissée à 5 ou 6 pans, délimités par de minces bourrelets : leur sommet peut être déprimé en une petite cuvette (Fig. 12, A), ou arrondi (Fig. 12, B). En coupe (Fig. 13, A), ces écailles, séparées par des sillons assez profonds, sont plus ou moins triangulaires, mais souvent asymétriques; sur l'une d'elles est visible la cuvette sommitale.

Ces écailles pyramidales, qu'elles soient petites ou grosses, donnent au péridium, du fait de leur séparation par de profonds sillons, un aspect grossier et rugueux.

c) **grandes écailles planes** : elles sont visibles sur l'ascocarpe photographié sur la figure 1, C. Souvent groupées en larges plaques pouvant atteindre 1/2 cm, elles sont séparées les unes des autres par des sillons peu accusés. Leur forme, quoiqu'encore pyramidale à la base, est beaucoup moins régulière que dans les types précédents : les pans sont de taille très variable et les arêtes les séparant peu accusées (Fig. 12, C). De plus, leur partie supérieure, au lieu d'être déprimée ou pointue, est typiquement tabulaire : cette surface sans grand relief donne à l'ascocarpe un aspect «lisse». Ces caractères se retrouvent très nettement sur les coupes verticales (Fig. 13, B et 14).

Entre les petites écailles pyramidales et les écailles planes existent des cas intermédiaires dont l'un d'eux est représenté en coupe verticale (Fig. 13, C); les écailles, planes et de taille moyenne, sont séparées par des sillons relativement profonds.

Toutes ces écailles, quel que soit leur type morphologique, présentent une structure tout-à-fait semblable (Fig. 7 et 14) : leur partie interne est de nature prosenchymateuse mais passe progressivement à une nature para-plectenchymateuse, lorsqu'on se rapproche de la périphérie, et devient même franchement parenchymateuse en surface. Les parois cellulaires s'épaississent et se mélanisent progressivement du centre vers l'extérieur, ce qui aboutit à la réalisation d'un cortex compact et très sombre où ne sont plus visibles que de rares lumières cellulaires.

CONCLUSIONS

Les caractères originaux des asques et de l'ascosporogénèse chez les Truffes (JANEX-FAVRE & PARGUEY-LEDUC, 1976, 1980, 1983; PARGUEY-LEDUC & JANEX-FAVRE, 1977, 1981; BERTA & FUSCONI, 1983; PARGUEY-LEDUC & al., 1987), nous avaient déjà permis de justifier la position marginale des Tubérales dans la systématique des Ascomycètes. Celle-ci est encore confirmée par les caractères très particuliers de l'ascocarpe tel que nous venons de le décrire chez le *Tuber melanosporum*, dont certains sont tout à fait aberrants par rapport à ceux de l'apothécie des Discomycètes typiques. Ainsi :

– la position hypogée a entraîné des modifications morphologiques et anatomiques. Les ascocarpes, plus ou moins globuleux, sont, comme l'a indiqué CHADEFAUD (1960), pratiquement périsporiés, c'est-à-dire dépourvus d'os-

tiole, les ascospores étant libérées seulement à la suite de sa putréfaction. Mais les Tubérales ne sont toutefois pas de véritables Périsporiés car les ascocarpes, ouverts lorsqu'il sont jeunes (PARGUEY-LEDUC & al., 1985), ne sont pas totalement clos lorsqu'ils sont adultes : en effet, quelques veines stériles aérifères s'ouvrent encore vers l'extérieur par de petits orifices secondaires.

– l'organisation de l'ascocarpe est très originale : au lieu de comporter un hyménium porté par une cupule stérile, il est ici constitué par une enveloppe écailleuse (ou péridium) et une volumineuse masse interne fertile (ou glèbe), sans polarité nette. Les asques étant toutefois strictement losalisés au sein des veines fertiles (délimitées par les veines stériles), il ne s'agit pas de Périsporiés Plectascales chez lesquelles les asques sont toujours disposés sans ordre défini.

- chez les espèces évoluées, telles que les *Tuber*, il n'y a pas de véritable «hyménium», au sens où on l'entend généralement, c'est-à-dire typiquement constitué par une palissade de paraphyses et d'asques; d'une part, les paraphyses bordant les veines stériles sont atypiques puisqu'elles produisent à leur extrémité des hyphes formant un réseau; d'autre part, elles sont dissociées des asques, ceux-ci se localisant au sein même des veines fertiles.

En ce qui concerne les différentes formations de l'ascocarpe notre étude a permis de préciser certains points :

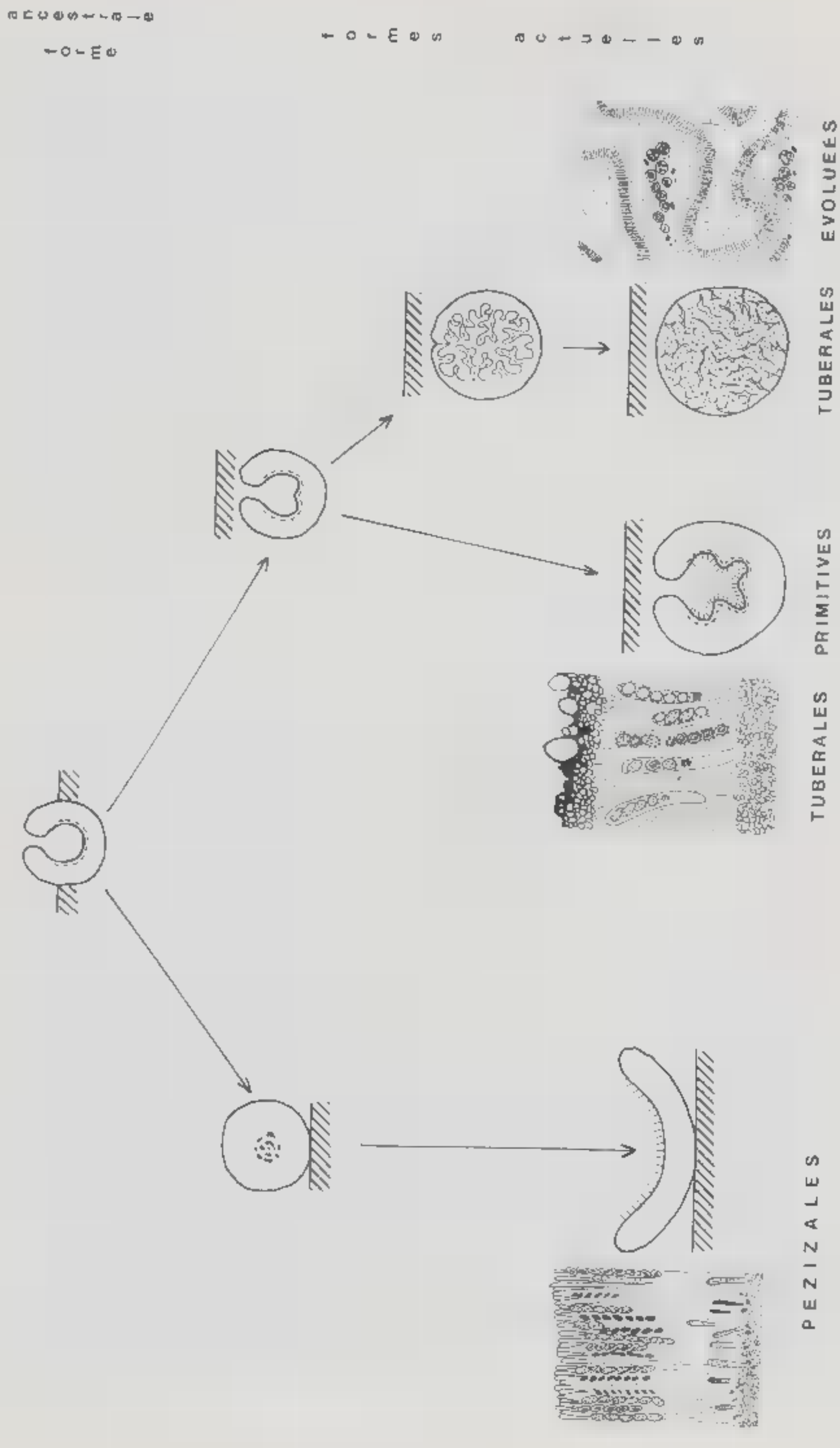
– l'enveloppe est un véritable péridium et non pas un pseudo-péridium, comme l'avaient pensé CHADEFAUD (1960), puis nous-même (PARGUEY-LEDUC & al., 1984), avant d'avoir observé le stade apothécioïde (PARGUEY-LEDUC & al., 1985) de l'ascocarpe. En effet, celui-ci nous a montré que les écailles sont précocement et parfaitement individualisées, formant déjà, à ce stade, un péridium continu, bien défini. Par la suite, ce dernier, au lieu d'être caduc, s'accroît au contraire au fur et à mesure de l'augmentation de volume de la glèbe : il ne se différencie donc pas secondairement, en remplacement, de pseudo-péridium.

– le terme d'hypothécium regroupant, comme nous l'avons vu, à la fois les bases coalescentes des écailles et le tissu fertile contourné – ce qui ne constitue pas une formation homogène – n'a pas été conservé.

– la communication des veines stériles avec l'extérieur, bien qu'exceptionnelle, fait de la Truffe un organe ouvert sur le milieu ambiant. Cela a plusieurs conséquences : d'une part elles ne sont pas véritablement stériles et hébergent fréquemment des bactéries, comme nous l'avons vu précédemment; d'autre part, les ascocarpes peuvent s'affranchir précocement du mycélium générateur (qui ne serait indispensable qu'au stade des primordiums, et encore), puisque la mise en contact permanent avec l'extérieur contribue probablement à donner à la Truffe son autonomie métabolique (elle est en particulier toujours le siège d'échanges respiratoires intenses (KULIFAJ, 1984). Cela peut sembler en contradiction avec l'affaiblissement observé chez certains arbres truffiers (notons toutefois que les meilleurs d'entre eux présentent au contraire un excellent développement), et celui des plantes situées sous couvert (phénomène du «brûlé»). Des auteurs italiens (FJUSELLO & BONFANTE, 1975; LUPPI MOSCA &

FONTANA, 1977; MONTACCHINI & CARAMIELLO LOMAGNO, 1977; MONTACCHINI & al., 1977; PAPA & al., 1978-79) ont émis l'hypothèse que certaines molécules (hormones, coumarines...) pouvaient expliquer la destruction des herbes à l'emplacement d'une truffière, mais il existe des brûlés sur lesquels on n'a jamais trouvé de Truffes et, inversement, on a récolté des Truffes sur des portions de terrain enherbées. Par ailleurs, si on ajoute un fertilisant adapté sur une truffière, on voit apparaître une végétation herbacée importante et... des Truffes. Dans cette autonomie métabolique, on peut supposer que ce sont les éléments qui sont en contact avec l'atmosphère des veines aérifères et de ce fait également avec l'atmosphère extérieure, c'est-à-dire les paraphyses et leur réseau arachnoïde, qui jouent un rôle essentiel : on observe en effet, dans leurs cellules, de remarquables empilements de réticulum endoplasmique qui n'ont pas été retrouvés dans les autres cellules de l'ascocarpe et qui attestent une forte activité métabolique. Il semblerait donc que les paraphyses aient perdu leur rôle primaire protecteur (tel qu'il existe chez les Discomycètes typiques) au profit d'un rôle secondaire métabolique. Mais si cette hypothèse est envisageable, après simples observations cytologiques, par contre, elle n'a pu être confortée par les expérimentations physiologiques; nous sommes, en effet, incapables d'attribuer un rôle métabolique quelconque et, à fortiori, un rôle dans le grossissement, à une partie spécifique de l'ascocarpe.

Les caractères aussi particuliers des Tubérales posent véritablement un problème quant à la position systématique de cet ordre. Certes, si l'on ne considère que l'ascocarpe, la filiation décrite par MALENÇON (1938), puis reprise par divers auteurs (GAÜMANN, 1949; MOREAU, 1953; CHADEFAUD, 1960; RUFFIANDIS, 1967; DELMAS, 1979) est très séduisante et l'on passe effectivement facilement, par l'intermédiaire de divers genres, de l'apothécie typique des Pézizales à l'ascocarpe aberrant des *Tuber* et du *Tuber melanosporum* en particulier. KORF (1973) pense également que Pézizales et Tubérales sont très proches et que les premières deviennent des Truffes par perte de l'opercule fonctionnel. Plus récemment, d'autres auteurs (TRAPPE, 1979; DONADINI, 1983) proposent même de rattacher l'ensemble des Tubérales aux Pézizales. Si ce point de vue est envisageable pour les genres qui possèdent un hyménium encore typique (paraphyses étroitement associées à des asques cylindriques octosporés), il est beaucoup plus difficile à concevoir pour les *Tuber* (et également les *Terfezia* qui leur sont proches, PARGUEY-LEDUC & al., en voie de publication) dont les caractères sont beaucoup plus aberrants (hyménium atypique avec dissociation des asques et paraphyses chez les *Tuber* et même disparition des paraphyses chez les *Terfezia*, originalité de l'ascosporogénèse, etc...). Nous pensons plutôt, comme le résume le schéma, que ces deux ordres, issus vraisemblablement d'un ancêtre commun à apothécie semi-immergée, simple et très refermée sur elle-même, représenteraient deux phylums distincts qui auraient évolué très différemment. Les Pézizales auraient peu évolué : l'apothécie, devenue aérienne, s'ouvre progressivement au cours de la maturation et l'hyménium s'étale à la partie supérieure régulière de la cupule. Chez les plus primitives des Tubérales (ex. *Genea*), l'apothécie, souterraine, demeure refermée


forme ancestrale
formes actuelles
PEZIZALES
TUBERALES PRIMITIVES
TUBERALES EVOLUEES

sur elle-même (mais la cavité centrale se trouve néanmoins en communication avec l'extérieur par un large orifice qui persiste à l'état adulte) et l'hyménium tapisse les replis internes. Chez les Tubérales évoluées (ex. *Tuber melanosporum*), l'apothécie, également souterraine, passe par un stade apothécioïde (PARGUEY-LEDUC & al., 1985), très semblable à l'apothécie du *Genea*, mais ce stade est transitoire; rapidement l'orifice supérieur disparaît et l'hyménium (dissocié), épousant les veines stériles, vestiges de la cavité centrale, devient très contourné.

Il faut noter que dans la filiation que nous venons de rapporter, nous n'avons pas fait apparaître, pour le *T. melanosporum*, le retournement de l'apothécie figuré par MALENÇON (1938) chez diverses autres espèces de *Tuber*. En effet, le jeune stade apothécioïde indique que cette espèce appartient au groupe des «*Superae*» plutôt qu'à celui des «*Inferae*».

Quant à sa position au sein des Tubérales, le *Tuber melanosporum* semble représenter un stade déjà très évolué, puisque :

- l'orifice primaire a disparu et les orifices secondaires sont petits et peu nombreux, les veines ne s'ouvrant que rarement à l'extérieur;
- l'hyménium est atypique, paraphyses et asques étant très nettement dissociés, contrairement à ce qui est observé chez des Tubérales plus primitives, tels le *Genea* ou l'*Hydnocystis;*
- les veines stériles sont encore parfaitement indivisualisées, mais elles sont étroites et, de plus, très encombrées par le réseau arachnoïde différencié à partir des paraphyses.

Mais si le stade évolutif du *Tuber melanosporum* est très avancé, il n'est toutefois pas terminal car l'ascocarpe serait alors composé d'une simple enveloppe réduite et d'une glèbe entièrement fertile, les veines stériles ayant été totalement comblées par le réseau, ou même ne se différenciant plus du tout.

BIBLIOGRAPHIE

BARON G., 1984 — Écologie et biologie de *Tuber melanosporum* Vitt. Thèse de Dr. en Phamarcie, Univ. Sci. et Méd. Grenoble, U.E.R. Pharmacie, 67 p.

BERTA G. and FUSCONI A., 1983 — Ascosporogenesis in *Tuber magnatum. Trans. Brit. Mycol. Soc.* 80 : 201-207.

BONFANTE P.F., FONTANA A. e MONTACCHINI F., 1971 — Studi sull' ecologia del *Tuber melanosporum. Allionia* 17 : 47-54.

CERUTI A., 1960 — Elaphomycetales et Tubérales. *In* : J. BRESADOLA, *Icon. Mycol.* 28 (supp. 2).

CHADEFAUD M., 1960 — Les Végétaux non vasculaires (Cryptogamie). *In* : M. CHADEFAUD & L. EMBERGER, *Traité de Botanique Systématique.* Tome I. Paris, Masson, XV + 1018 p., 713 fig.

CHADEFAUD M., 1963 — Les Champignons. *In* : P.P. GRASSÉ, *Précis de Sciences biol. : Botanique.* Paris, Masson, p. 251-403.

CHATIN A., 1869 – *La Truffe. Étude des conditions générales de la production truffière.* Paris, Bouchard Huzard, 202 p.

CHATIN A., 1892 – *La Truffe. Botanique de la truffe et des plantes truffières - sol - climat - pays producteurs - composition chimique - culture, récolte, commerce, fraudes, qualités alimentaires, conserves, préparations culinaires.* Libr. J. B. Baillère & Fils, 372 p.

CHAZE J., 1950 – Sur la formation du périthèce et d'un appareil conidien chez *Tuber melanosporum* en culture pure. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 230 : 859-861.

CHEVALIER G., 1972 – Obtention de cultures de mycélium de truffe à partir du carpophore et des mycorhizes. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 58 : 981-989.

CHEVALIER G., GRENTE J. et POLLACSEK A., 1973 – Obtention de mycorhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques et à partir de cultures pures de mycélium en conditions axéniques et gnotoxéniques. *Ann. Phytopathol.* 5 : 107-108.

CHEVALIER G. et DESMAS C., 1975 – Synthèse axénique des mycorhizes de *Tuber melanosporum, Tuber uncinatum* et *Tuber rufum* sur *Pinus silvestris* à partir de cultures pures du Champignon. *Ann. Phytopathol.* 7 : 339.

CHEVALIER G. et DESMAS C., 1977a – Synthèse de mycorhizes de *Tuber melanosporum* avec *Corylus avellana* sur gélose à partir des spores. (11ème colloque de la Sté Fse de Phytopathologie, Paris, 18 Mai 1976). *Ann. Phytopathol.* 9 : 531.

CHEVALIER G. et DESMAS C., 1977 b – Mycorhization par *Tuber melanosporum* de plants de *Quercus pubescens* en culture hydroponique *sensu stricto. Ann. Phytopathol.* 9 : 532.

CHEVALIER G. et GRENTE J., 1978 – Application pratique de la synthèse ectomycorhizienne : production à grande échelle de plants mycorhizés. *Mushroom Science* X, part II : 483-505.

CHEVALIER G., GIRAUD M., BARDET M.C., 1982 – Interaction entre les mycorhizes de *Tuber melanosporum* et celles d'autres champignons ectomycorhiziens en sols favorables à la Truffe. Les Mycorhizes : biologie et utilisation (Dijon, 5/6 Mai 1982). INRA (colloque de l'INRA n° 13).

DANGEARD P.A., 1895/96 – La Truffe. Recherches sur son développement, sa structure, sa reproduction sexuelle. *Le Botaniste* 4/5 : 63-87.

DELMAS J. et POITOU N., 1973 – Contribution à la connaissance de l'écologie de *Tuber melanosporum* : la truffe du Périgord. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 18 : 1486-1493.

DELMAS J. et POITOU N., 1978 – La mycorhization de *Quercus pubescens* par *Tuber melanosporum* en conditions contrôlées : influence de quelques facteurs du milieu. *Mushroom Science* X, part I : 995-1006.

DELMAS J.,, 1979 – Les Truffes. *Pour la Science* 26 : 69-80.

DELMAS J., 1983 – *La Truffe et sa culture.* INRA, 55 p.

DONADINI J.C., 1983 – Étude des Discomycètes (1). Critères taxinomiques des Pézizales et Tubérales. *Bull. Soc. Linn. Provence* 35 : 53-73.

FERRY de la BELLONE C. de, 1888 – *La Truffe - Étude sur les Truffes et les truffières.* Paris, Baillère.

FISCHER E., 1897 – *Tuberinae. In* : H.G.A. ENGLER & K.A.E. PRANTL, *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, ed. I, 1 : 278-290.

FJUSELLO N. and BONFANTE P.F., 1975 – Présence of IAA in mycelial cultures of *Tuber melanosporum.* Abstract culture Fluid Defined media. *Giorn. Bot. Ital.* 109 : 170-176.

FONTANA A., 1971 — Il mecelio di *Tuber melanosporum* Vitt. in coltura pura. *Allionia* 17 : 19-23.

GAÜMANN E., 1949 — *Die Pilze. Grundzüge ihrer Entwichlungsgeschichte und Morphologie*. Bâle, 1 vol., 382 p.

GRENTE J., CHEVALIER G. et POLLACSEK A., 1972 — La germination de l'ascospore de *Tuber melanosporum* et la synthèse sporale des mycorhizes. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., sér. D*, 275 : 743-746.

GRENTE J. et DELMAS J., 1974 — *Perspectives pour une trufficulture moderne*. Clermont-Ferrand, INRA.

GUILLAUME G.A., 1972 — *Écologie de Tuber melanosporum Vitt. dans le Var*. Mémoire ENITA, INRA.

JACQUET P. (inédit) — Contribution à l'étude de l'association mycorhizienne de *Tuber melanosporum* Vitt. et de *Corylus avellana* L.

JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1976 — La formation des ascospores chez deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. (Tubéracées). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D*, 283 : 1173-1175.

JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1980 — Formation et évolution des ascospores du *Tuber mesentericum* Vitt. *Bull. Soc. Mycol. France* 96 : 225-237.

JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1983 — Étude ultrastructurale des asques et des ascospores de Truffes du genre *Tuber*. II. Les ascospores. *Cryptogamie, Mycol.* 4 : 353-373.

JANEX-FAVRE M.C., PARGUEY-LEDUC A. et RIOUSSET L. (en voie de publication) — L'ascocarpe hypogé d'une *Terfez* française (*Terfezia leptoderma* Tul., Tubérales).

KORF R.P., 1973 — Sparassoid ascocarps in Pezizales and Tuberales. *Tottori Myc. Inst. (Japan)* 10 : 389-403.

KULIFAJ M., 1984 — *Tuber melanosporum* Vitt. : contribution à l'étude de la morphogenèse et de la physiologie de l'ascocarpe. Thèse de Doctorat 3ème cycle, Université P. Sabatier, Toulouse, 72 p.

LUPPI MOSCA A.M. and FONTANA A., 1977 — Researches on *Tuber melanosporum* ecology : IV. Mycological analyses of central Italy truffle soils. *Allionia* 22 : 105-114.

MALENÇON G., 1938 — Les Truffes européennes. Historique, Morphogénie, Organographie, Classification, Culture. *Rev. Mycol. (Paris)*, Mém. hors-série n° 1, 92 p.

MARCHAND A., 1971 — *Champignons du Nord et du Midi*, T. 1. Sté Mycologique des Pyrénées méditerranéennes, 264 p.

MATTIROLO O., 1903 — I funghi ipogei italiani. *Mem. Acad. Roy. Sci. Turin*, 53 : 331-336.

MELENDEZ-HOWELL L.M. et CAILLEUX R., 1971 — Présence d'un pore germinatif sporal chez quelques espèces du genre *Tuber* Mich. ex Fr. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, Sér. D, 273 : 2485-2488.

MONTACCHINI F. and CARAMIELLO LOMAGNO R., 1977 — Researches on *Tuber melanosporum* ecology. II. Inhibitory action on wild herbaceous species. *Allionia* 22 : 81-86.

MONTACCHINI F., LOBUE G. and CARAMIELLO LOMAGNO R., 1977 — Researches on *Tuber melanosporum* ecology. III. Inhibitory phenomena in central Italy natural environment. *Allionia* 22 : 87-104.

MONTANT C., KULIFAJ M. et GLEIZE R., 1983 — Note sur la récolte de jeunes ascocarpes du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord) et leur évolution. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, Sér. III, 296 : 463-468.

MONTANT C. et KULIFAJ M., 1985 — Données nouvelles sur la biologie du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe du Périgord) : incidence sur la production. Réseau Mycologie (réunion 1985, 11-12 Octobre). Toulouse, Université P. Sabatier, p. 68-70.

MOREAU F., 1953 — *Les Champignons.* T. II, Systématique. Paris, Lechevalier, 1179 p.

PAGNOL J., 1973 — *La Truffe.* Avignon, Aubanel, 185 p.

PALENZONA M., 1969 — Sintesi micorrizica tra *Tuber aestivum* Vitt., *Tuber brumale* Vitt., *Tuber melanosporum* Vitt. e semenzali di *Corylus avellana* L. *Allionia* 15 : 121-131.

PALENZONA M., CHEVALIER G. and FONTANA A., 1972 — Mycorrhizal synthesis between the mycelia in culture of *Tuber brumale, Tuber melanosporum, Tuber rufum* and conifer and broad leaves seedlings. *Allionia* 18 : 41-51.

PAPA G. and PORRARO G., 1978/79 — Studies on the ecology of *Tuber melanosporum* : 6. Spectrophotometric analysis of truffle soil extracts and inhibition of seed germination. *Allionia* 23 : 95-102.

PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 — L'organisation des asques de deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. *Rev. Mycol. (Paris)* 41 : 1-32.

PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1981 — Étude ultrastructurale des asques et des ascospores de Truffes du genre *Tuber.* I. Les asques. *Cryptogamie, Mycol.* 2 : 37-43.

PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1984 — Structure et évolution de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. III, 299 : 315-320.

PARGUEY-LEDUC A., MONTANT C. et KULIFAJ M., 1985 — Le stade apothécioïde de l'ascocarpe du *Tuber melanosporum* Vitt. (Truffe noire du Périgord). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, sér. III, 301 : 43-145.

PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C. et MONTANT C., 1987 — Formation et évolution des ascospores du *Tuber melanosporum* Vitt. *Canad. J. Bot.* 65 : 1491-1503.

REBIERE J., 1981 — *La Truffe du Périgord.* Périgueux, Fanlac, 201 p.

ROUQUEROL T. et PAYRE H., 1974/1975a — Conséquences de quelques particularités biologiques des *Tuber* sur les caractères des cultures de mycélium et sur la formation des Truffes. *Rev. Mycol. (Paris)* 39 : 213-222.

ROUQUEROL T. et PAYRE H., 1974/1975b — Observations sur le comportement de *Tuber melanosporum* dans un site naturel. *Rev. Mycol. (Paris)* 39 : 107-117.

RUFFIANDIS, 1967 — *Mon amie la Truffe.* 41 p.

SCANNERINI S. et BONFANTE-FASOLO P., 1982 — Données actuelles sur la cytologie des mycorhizes. Les Mycorhizes : biologie et utilisation (Dijon 5/6 Mai 1982). I.N.R.A. (colloque de l'I.N.R.A. n° 13).

TRAPPE J.M., 1979 — The orders, families and genera of hypogeous *Ascomycetina* (Truffles and their relatives). *Mycotaxon* 9 : 297-340.

TULASNE L.R. et TULASNE Ch., 1851 — *Fungi hypogaei.* Paris, Editio altera.

TULASNE L.R. et TULASNE Ch., 1862 — *Histoire et monographie des champignons hypogés.* Paris, Klencksieck.

VITTADINI C., 1831 — *Monographia Tuberacearum.* Mediolani., 88 p.